

наполнителей отмечается лишь незначительное снижение развития фитопатогенных грибов.

Таким образом, можно отметить, что для снижения численности фитопатогенных грибов в качестве наполнителя лучше применять цеолит и каолин. При использовании цеолита наблюдается более высокий титр клеток бактерий, к тому же в Казахстане есть собственное месторождение цеолита, поэтому нет необходимости в его закупе в соседних государствах. Это естественно отражается на цене конечного продукта. В связи с этим для использования в качестве наполнителя рекомендуется цеолит.

#### Библиографический список

1. *Bashan Y.* Inoculants of plant growth-promoting bacteria for use in agriculture // *Biotechnology Advances*. 1998. № 16. P. 729–770.
2. *Beck D.P.* Suitability of charcoal-amended mineral soil as carrier for *Rhizobium* inoculants // *Soil Biology and Biochemistry*. 1991. № 23. P. 1–44.

## ПОЛУЧЕНИЕ И АНАЛИЗ БЕЗМАРКЕРНЫХ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ

**А.А. Лебедева, Н.С. Захарченко, Я.И. Бурьянов.**

Филиал Учреждения Российской академии наук Института биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Пуццино.  
e-mail: zachar@fibkh.serpukhov.su

Селективные маркерные гены широко используются для отбора трансформированных растений. В основном используются гены устойчивости к антибиотикам канамицину, гигромицину или гербициду фосфинотрицину (Angenon et al., 1994). Полученные с помощью селективных маркеров трансгенные растения представляют потенциальную биологическую опасность, связанную с присутствием в их геноме этих генов и с возможностью их неконтролируемого переноса другим растениям и организмам. В настоящее время актуальной задачей является получение растений нового поколения, не содержащих селективных маркерных генов (Hare et al., 2002).

Целью нашей работы было получение трансгенных растений рапса масличного с повышенной устойчивостью к микробным фитопатогенам без применения селективных генов для отбора трансформантов. Для детекции трансформированных растений использован целевой ген антимикробного пептида цекропина P1 (Martemyanov, 1996). Для трансформации использовали безмаркерную генетическую конструкцию pBM-*cscP1*. Синтетический ген цекропина P1 (*cscP1*) клонирован под промотором 35S РНК вируса мозаики цветной капусты (CaMV35S). Полученную конструкцию переносили в штамм *Agrobacterium tumefaciens* 4404 (pAL4404) и использовали для трансформации. Скрининг трансформантов проводили на

неселективной среде методами детектирования цекропина P1 в растительных экстрактах основанными на его иммуноферментном анализе и антибактериальной активности. Эффективность выявления трансформированных регенерантов составляет около 2 %. Полученные нами *secP1* – растения рапса синтезировали цекропин P1 на среднем уровне около 0.005 % от общего растворимого белка клетки. Таким образом, ген *sec P1* можно использовать одновременно в качестве целевого гена и скринингового маркера. Полученные безмаркерные трансгенные растения, экспрессирующие синтетический ген цекропина P1, проявляют значительное повышение устойчивости к микробным фитопатогенам – бактериям *Erwinia carotovora*, *Pseudomonas syringae* и грибам *Sclerotinia sclerotiorum*, *Phytophthora infestans*.

Проведено исследование экологической безопасности полученных растений. Известно, что растения состоят в тесной ассоциации с различными полезными колонизирующими микроорганизмами. Трансгенные растения рапса с геном цекропина сохраняли свою способность к колонизации полезными ассоциативными микроорганизмами – *Methylovorus mays* и *Pseudomonas aureofaciens*.

Работа поддержана грантами РФФИ № 08-08-00406 и № 10-04-00037.

#### Библиографический список

1. Angenon G., Dillen W., van Montagu M. Antibiotic-Resistance Markers for Plant Transformation // Plant Molecular Biology Manual // Eds. Gelvin S.B., Schilperoort R.A. Dordrecht: Kluwer Acad. Publ. 1994. C1. P. 1-13.
2. Hare P.D., Chua N-H. Excision of selectable marker genes from transgenic plants // Nat Biotechnol. 2002. V. 20. P. 113-122.
3. Martemyanov K.A., Spirin A.S., Gudkov A.T. Synthesis, cloning and expression of genes for antibacterial peptides: cecropin, magainin, and bombinin // Biotechnology Lett. 1996. V. 18. P. 1357-1362.

## ПОТЕНЦИАЛЬНАЯ ПРОДУКТИВНОСТЬ ВЕГЕТАТИВНОГО РАЗМНОЖЕНИЯ КОКУШНИКА ДЛИННОРОГОВОГО «IN VITRO» НА СТАДИИ РАЗВИТИЯ ПРОТОКОРМА

**Л.А. Крюков, А.И. Широков**

Нижегородский Государственный Университет им. Н.И. Лобачевского,  
E-mail: LavrKryukov@gmail.com

Орхидные (*Orchidaceae* Lindl.) – одно из самых многочисленных семейств среди цветковых растений. Сложные биоэкологические особенности и активное антропогенное воздействие на среду обитания привело к отнесению большинства видов этого семейства к категории редких и исчезающих. Необходимо создание эффективных методов для размножения орхидных и восстановления численности нарушенных популяций.